Aus dem Senckenbergischen Zentrum der Pathologie
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main
Direktor: Prof. Dr. K. Hübner

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS DER HYPOPHYSEKTOMIE AUF DIE KALLUSBILDUNG AM TIBIADEFEKT UND AUF DIE WACHSTUMSFUGE BEI DER RATTE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Michael Rückert
aus Ratingen

1983

Frankfurt am Main 1982

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523711_0008

Aus dem Senckenbergischen Zentrum der
Pathologie der Johann Wolfgang Goethe-
Universität Frankfurt am Main
Direktor: Prof. Dr. K. Hübner

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUß DER HYPOPHYSEKTOMIE AUF DIE KALLUSBILDUNG AM TIBIADEFEKT UND AUF DIE WACHSTUMSFUGE BEI DER RATTE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Michael Rückert
aus Ratingen

Frankfurt am Main 1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof. Dr.med. H.J. Müller
Referent: Prof. Dr.med. K. Hübner
Korreferent: Prof. Dr.med. Dr.med.dent G. Frenkel

Tag der mündlichen Prüfung: 15. März 1983

dvv Dissertations- & Skriptendruck T. 0251/20614

Mein besonderer Dank gilt
Herrn Prof. Dr. K. Hübner
für die Überlassung des
Themas.
Auch Herrn Dr. A. Enderle,
jetzt Orthopädische Uni-
versitätsklinik Göttingen,
danke ich herzlich für die
Ratschläge bei der Planung
und Durchführung der Versuche
und die jederzeit gern
gewährte Hilfe.
Für die zur Auswertung der
Ergebnisse notwendige
Einführung in die Statistik
und Anleitung zur Anwendung
statistischer Methodik
danke ich ebenso herzlich
Herrn Dr. R. Fischer,
Institut für medizinische
Informatik und Biomathematik,
Universität Münster.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	
1.1 Historischer Überblick	1
1.2 Zielsetzung	4
2. Material und Methodik	
2.1. Vorversuch	5
2.2. Hauptversuch	
2.2.1. Versuchstiere	8
2.2.2. Haltungsbedingungen	8
2.2.3. Narkose	9
2.2.4. Hypophysektomie	9
2.2.5. Defektsetzung	17
2.2.6. Gruppeneinteilung	17
2.2.7 Tötung der Ratten	19
2.2.8. Alkalische Phosphatase	21
2.2.9. Histologische Technik	21
2.2.10. Morphometrie des Kallus	22
2.2.11. Morphometrie der Wachstumsfugen	25
2.2.12. Statistische Auswertung	25
3. Ergebnisse	
3.1. Erfolgskriterien der Hypophysektomie	27
3.2. Röntgenbilder	32
3.3. Alkalische Phosphatase	32
3.4. Gewichtskurven	32
3.5. Histologischer Befund	37
3.6. Auswertung der Kallusmorphometrie	38
3.7. Auswertung der Morphometrie der Wachstumsfugen	43
4. Diskussion der Ergebnisse	50
5. Zusammenfassung	55
6. Literatur	58

1. Einleitung

1.1 Historischer Überblick

Seit langem ist die Steuerung des Skeletwachstums durch die Hypophyse bekannt. Knochenwachstum bedeutet aber auch Knochenneubildung. Damit drängt sich die Frage auf, ob das Wachstumshormon unmittelbar auf die Knochenneubildung, wie beispielsweise auf das Kallusgewebe, stimulierend wirkt.

Bereits 1916 hat ERDHEIM am menschlichen Skelet in Fällen von Zwergenwuchs und fehlendem Epiphysenfugenschluß bei der Autopsie eine Destruktion der Hypophyse nachgewiesen.
DOTT und FRASER stellten 1923 nach Hypophysektomie bei Katzen und Hunden einen Wachstumsstillstand fest.
Nach SMITH (1930) war das Sistieren des Wachstums bei der Ratte der auffälligste Effekt nach Hypophysektomie.
An jungen Hunden konnten DANDY und REICHERT (1938) zeigen, daß sowohl das Knochenwachstum als auch der Schluß der Wachstumsfugen durch die Hypophysektomie verlangsamt wurde.

Zur Standardisierung weiterer Versuche kam der "Tibiatest" (EVANS et al. 1943) zur Anwendung, der wenig später von GREENSPAN et al. (1949) modifiziert wurde:
Die dosisabhängige Verbreiterung der Wachstumsfuge der proximalen Tibia durch STH nutzte man

zur Überprüfung des Längenwachstums. Dieser Versuch an hypophysektomierten Ratten blieb die am meisten gebrauchte Methode der quantitativen Untersuchung des biologischen Effekts des Wachstumshormons (SIMPSON et al. 1950, GSCHWIND et LI 1955, PAPKOFF et LI 1962, ASLING et al. 1968).
Dieser Test hat hohe Spezifität für STH, wenn Interferenz mit anderen Hormonen ausgeschlossen werden kann (AILBOUNI et al. 1966).
Eine weitere Vereinfachung des Tibiatests entstand durch die Idee, die Tibia mit Silbernitratlösung anzufärben und das projizierte Präparat auszumessen (BAETZNER et al. 1972).
Zweifel an der Signifikanz des Tibiatests äußerten THORNGREN und HANSSON (1974), die keine Beziehung zwischen der Knochenwachstumsrate und der Wachstumsfugenbreite fanden. Sie bevorzugten statt dessen die Bestimmung des Knochenlängenwachstums an der tetracyclinmarkierten Wachstumsfuge durch Fluoreszenzmikroskopie. Im Gegensatz dazu zeigte RANG (1969), daß das Längenwachstum des Knochens direkt proportional der Breite der Wachstumsfugen sei. Dieses Ergebnis wurde in einer jüngeren Untersuchung durch histologische und autoradiographische Untersuchungen wieder bestätigt (SEINSHEIMER et SLEDGE 1981).

Wichtig war diese Standardisierung für die vergleichende Untersuchung der Wirkungsweise menschlichen Wachstumshormons, das nach seiner erstmaligen Isolierung (LI et PAPKOFF 1956)

Eingang in die Therapie des hypophysären Zwergenwuchses gefunden hatte.

Auf Grund seiner bekannten Wirkung auf die Wachstumsfuge (AILBOUNI et al. 1966, MUELLER 1964, RAMAN 1969, THORNGREN et al. 1977) wurde das Wachstumshormon klinisch direkt zur Stimulation der Kallusbildung bei schwer heilenden Frakturen eingesetzt (KOSKINEN et al. 1975, KOSKINEN et al. 1977, MISOL et al. 1971). Andere Autoren stellten den gegenteiligen Effekt des STH auf die Wachstumsfuge fest (ASLING et NELSON 1962, BOHR 1968).
Ebenso wurde das Fehlen des erwünschten Effekts des STH auf die Frakturheilung in einigen Tierexperimenten beobachtet (BABAYAN et al. 1979, HEROLD et al. 1971, NORTHMORE-BALL et al.1980).

Bei den Tierexperimenten in der Literatur über den Zusammenhang zwischen STH und Frakturheilung wurden die Frakturen dadurch gesetzt, daß der Knochen manuell durchgebrochen wurde. Wenige Autoren haben diese Frakturen maschinell durchgeführt (JACKSON et al. 1970, NORTHMORE-BALL et al. 1980).
Die Beurteilung der Kallusmasse erfolgte einerseits am Röntgenbild, andererseits am histologischen Schnitt des teils entkalkt, teils unentkalkt eingebetteten Knochens. Auch autoradiographische Untersuchungen wurden durchgeführt.
Die histologische Analyse war rein qualitativer Art ohne quantitative Ausmessung des Kallusgewebes.

1.2. Zielsetzung

In der vorliegenden Arbeit sollte der Versuch gemacht werden, einen eventuell vorhandenen Einfluß der Hypophysektomie auf die Kallusbildung durch quantitative Messungen im Kallusgewebe nachzuweisen. Weiterhin sollte untersucht werden, ob eine Korrelation zwischen Fraktur und Wachstum besteht.

Nach der erstmaligen Isolierung reinen humanen Wachstumshormons wurde es klinisch zur Wachstumsstimulierung ohne einen völlig schlüssigen Beweis der Wirksamkeit auf den Frakturkallus eingesetzt. Zahlreiche Untersucher prüften die Wirksamkeit in der folgenden Zeit sowohl im Tierversuch als auch am Patienten rein qualitativ röntgenologisch (HEROLD et al. 1971, MISOL et al. 1971), qualitativ histologisch (CLAES et MUTSCHLER 1981, TYLKOWSKI et al. 1976). oder mittels der Autoradiographie (KOSKINEN 1967).
Eine verläßlich genaue Aussage über den Einfluß der Hypophyse auf die Kallusbildung wird sich jedoch nur durch eine quantitativ morphometrische Ausmessung des Kallus erzielen lassen.
Dieser Aufgabe dient die nachstehend beschriebene Versuchsanordnung, die es darüberhinaus ermöglicht,eine Aussage zu machen, inwieweit eine Fraktur Einfluß auf die benachbarte Wachstumsfuge hat.
Nach den bisherigen Erfahrungen aus der Literatur kann bei der Durchführung dieser Experimente

folgendes erwartet werden:
An der Wachstumsfuge kann man in der Regel bei hypophysektomierten Tieren eine Abnahme der Weite der Fuge durch Stillstand der Proliferation erwarten (RAY et al. 1954, MUELLER 1964).
Als Folge der Hypophysektomie sollte das Wachstum stagnieren (SIMPSON et al. 1950).
Die Kallusbildung sollte nach Hypophysektomie verzögert sein (TYLKOWSKI et al. 1976) und die Frakturheilung deutlich verlangsamt sein (SIMPSON et al. 1953, BOURNE 1972).
Eine Fraktur hingegen sollte eine Stimulation der Wachstumsfuge in Form einer Wachstumsbeschleunigung in den ersten 30 Tagen um 8 % bewirken (HANSSON et al. 1976).

2. Material und Methodik

2.1. Vorversuch

Das Ziel des Vorversuches war es einmal, eine Methode zur Produktion einer standardisierten Kallusmasse bezüglich ihrer Größe und Qualität zu ermitteln, und zum anderen die Versuchsdauer und die Gewichte der Tiere festzulegen.
Hinsichtlich einer gewünschten Homogenität war es nötig, ein stabiles Milieu bei der Kallusbildung zu schaffen, denkbar durch innere Fixation mit einem Marknagel oder aber durch äußere Fixation mit Gips.
Wegen möglicher Beeinflußung des Kallus durch den medullären Kraftträger wurde auf die innere Fixation verzichtet.

Fünf verschiedene Frakturtechniken wurden durchgeführt und anschließend nach dem histologischen Ergebnis der entkalkt und in Paraffin eingebetteten Präparate beurteilt:

1. Digitale geschlossene Femurfraktur
2. Digitale geschlossene Tibiafraktur
3. wie nach Nr.2, und Gipsschienung
4. offene Tibiafraktur mit Seitenschneider
5. offener Tibiadefekt durch Fräsen im proximalen Drittel

Die Einteilung der Ratten erfolgte in drei Gewichtsklassen:

1. leichte (150-200g), 20 Tiere,
2. mittlere (200-250g), 10 Tiere,
3. schwere (250-300g), 8 Tiere.

Die histologische Auswertung wurde ohne Morphometrie durch summarische quantitative Beurteilung des histologischen Bildes durchgeführt:

1. 14 Tage,
2. 28 Tage,
3. 42 Tage nach Fraktur.

Diese lichtmikroskopische Auswertung zeigte bei den 14 Tage alten Defekten aller Gruppen einen geringen knöchernen Kallus und einen hohen Bindegewebs- und Knorpelanteil.

Nach 28 Tagen war bei Gruppe 5 als einziger im Kallus kein Bindegewebe mehr nachweisbar. Bei allen Gruppen fand sich ein mäßiger Knorpel- und hoher Knochenanteil.

42 Tage nach Defektsetzung war der Kallus nur bei Gruppe 5 völlig verknöchert, die übrigen Gruppen wiesen noch Knorpel- und Bindegewebsinseln auf.

Zu einem rein knöchernen Kallus reproduzierbar gleicher Größe führte also nach 42 Tagen das Fräsen eines Defektes in das proximale Drittel der Tibia unter Schonung der hinteren Corticalis und der Fibula mit einem zahnärztlichen Fissurenbohrer (ISO 009, BUSCH fig.36).

Dieser Kallus entsprach der Forderung nach gleicher Größe durch Anwendung des genormten Bohrers und nach gleicher Qualität durch die Stabilisierung durch die hintere Corticalis und die Fibula, wodurch Mikrobewegungen ausgeschlossen werden konnten.

Die Frakturfixation mit Gips bewährte sich nicht, da die Ratten nach einem Tag bereits dem Gips entschlüpften oder ihn durch Nagen zerstört hatten.

Das Körpergewicht der Ratten hatte keinen histologisch verifizierbaren Einfluß auf den Kallus.
Im Hauptversuch wurde die Frästechnik nach Nr.5 übernommen und die Versuchsdauer auf 20 und 40 Tage festgelegt.

2.2. Hauptversuch

2.2.1. Versuchstiere

Der Versuch wurde an männlichen Sprague-Dawley-Ratten mit einem Ausgangsgewicht von 180-220g durchgeführt.
Es wurden männliche Tiere ausgewählt, um an den Hoden den Nachweis der Reaktion des Keimdrüsenepithels auf die Hypophysektomie durchführen zu können, welches nach Hypophysektomie einen Stillstand der Spermiogenese zeigen soll (REIß et al. 1933, PLOCHER et POWLEY 1976).

2.2.2. Haltungsbedingungen

Nach dem Transport wurde die optimale Adaptationszeit von 8 Tagen eingehalten (FORTMEYER 1974).
Um der Stressvermehrung bei hypophysektomierten Tieren entgegenzuwirken, wurden nicht mehr als zwei Tiere in einem Käfig gehalten.
Der Raum war schalldicht, es herrschte eine Luftfeuchtigkeit von 30-40 % bei 22° C.
Bei konstantem Hell-Dunkel-Zyklus dauerte die Hellphase von 08-20 Uhr.
Ernährt wurden die Ratten mit handelsüblichen Pellets und ad. lib. 5 % Dextroselösung in 1 % NaCl.
Das erste Gewicht wurde am Tag nach der Defektsetzung ermittelt, die weiteren in Abständen von drei Tagen abends. Das letzte Gewicht war das Gewicht vor dem Töten.

2.2.3. Narkose

Als Prämedikation erhielten die Tiere ATROPIN 0,01-1 mg/Kg i.m.; wegen der großen therapeutischen Breite war die Dosierung problemlos. Diese Prämedikation dämmte erfolgreich eine die anschließende Operation behindernde Speichelsekretion ein.
Die ÄTHERNARKOSE wurde in einem gläsernen Topf mit äthergetränktem Lappen bis zum Bewußtseinsverlust der Ratte eingeleitet.
Dann unterhielt ein über der Schnauze hängender äthergetränkter Wattebausch während der beginnenden Operation die Narkose.
Da die Trachea zur Hypophysektomie ohnehin freigelegt werden mußte, konnte die Ätherzufuhr nach Tracheotomie über einen eingeführten Plastiktubus fortgeführt werden.

2.2.4. Hypophysektomie

Die Operation wurde nach der parapharyngealen Methode durchgeführt (SMITH 1930, LOSTROH et JORDAN 1955, BAETZNER et al. 1972, THORNGREN et al. 1973).
Dazu wurde die Ratte mit ihren Extremitäten in Rückenlage auf dem OP-Tisch fixiert. Ein an den oberen Inciciven eingehängter und mittels einer Feder mit dem OP-Tisch verbundener Metallring hielt den Kopf des Tieres.
Der Hautschnitt verlief in der Mittellinie des Halses vom Kinnwinkel bis zum Sternum.
Nach Präparation wurden die Lymphonodi

maxillares anteriores sowie die Glandulae submaxillares nach lateral verschoben.
Der nun freiliegende, die Trachea bedeckende Musculus sternohyoideus konnte nun median stumpf gespalten werden. Mit einer feinen Dentalpinzette wurden die Muskelanteile nach lateral verdrängt und die Trachea zur Tracheotomie dargestellt (Abb. 1).
Nach Absaugen von Blut und Schleim aus dem Respirationstrakt wurde der Tubus eingeführt und Trachea, Musculus sternohyoideus und Glandulae submaxillares durch Haken lateralwärts gezogen.
Das seitliche Verschieben der Trachea machte den Musculus longus colli sichtbar, der stumpf gespalten und von seiner Unterlage gelöst wurde.
Eine strenge craniale Orientierung führte zum Auffinden der Trepanationsstelle auf der Schädelbasis: dem Mittelpunkt der Kreuzung der Crista ossis occipitalis mit der Synchondrosis sphenooccipitalis, einem T (Abb. 2).
Mit einem zahnärztlichen Rosenbohrer (ISO 023, MEISINGER fig. HM 1) mußte hier bei bis zu 18.000 Upm tupfend und kreisend trepaniert werden (Abb. 3). Eine manchmal in der Tiefe des Bohrkanals noch stehengebliebene dünne Knochenlamelle wurde vorsichtig mit einer spitzen Pinzette entfernt. Die Hypophyse konnte anschließend mit einer Wasserstrahlpumpe durch das Trepanationsloch (Abb. 4) abgesaugt werden.

Im gläsernen Steigrohr des Absaugschlauches (Abb. 5) war eine erste makroskopische Inspektion der Hypophyse möglich (KEMBER 1971). Der anschließende Verschluß der Wunde erfolgte mit Klammern.

In den weiteren Versuch wurden von den hypophysektomierten Ratten nur diejenigen Tiere übernommen, die postoperativ 7 Tage überlebt hatten und die keinen Gewichtszuwachs mehr zeigten.

Abbildung 1: Hypophysektomie - Darstellung der Trachea zur Tracheotomie

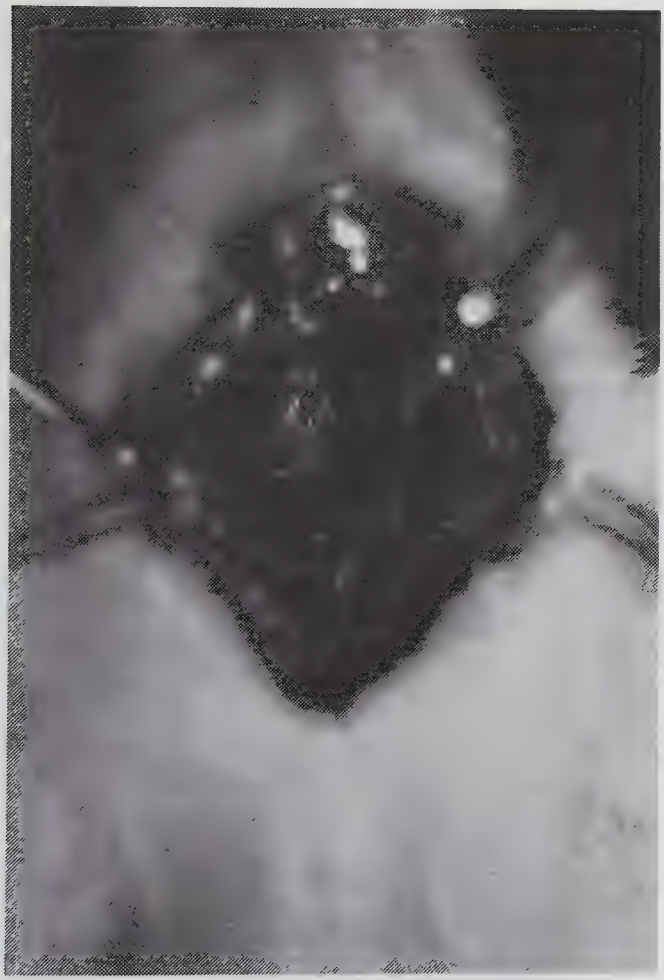


Abbildung 2: Hypophysektomie - Trepanationsstelle auf der Schädelbasis

Abbildung 3: Hypophysektomie - Situs nach erfolgter Trepanation, Rosenbohrer

Abbildung 4: Hypophysektomie - Operationssitus vor dem Absaugen der Hypophyse

Abbildung 5: Hypophysektomie - Hypophyse im Steigrohr der Wasserstrahlpumpe

2.2.5. Defektsetzung

Äthertropfnarkose.
Operation:
Auf dem OP-Tisch wurde die Ratte fixiert und der rechte Hinterlauf mit einer Beugestellung im Kniegelenk gelagert.
Nach einem Hautschnitt parallel zur Längsachse auf der Margo anterior tibiae wurde das Periost stumpf mit einem Raspatorium abgeschoben. Anschließend erfolgte direkt unterhalb der Tuberositas tibiae das Fräsen des Defektes in der Breite des benutzten Fissurenbohrers (ISO 009). Die hintere Corticalis wurde ebenso wie die Fibula geschont (Abb. 6). Zur Kühlung diente physiologische Kochsalzlösung.
Die Wunde wurde danach mit Klammern verschlossen.

Tiere, deren Tibiae durch Einbrechen der hinteren Corticalis nach Versuchsende eine Achsenabweichung aufwiesen, kamen nicht in die Auswertung.

2.2.6. Gruppeneinteilung

Es wurden 4 Gruppen zu je 16 Tieren gebildet, von denen die eine Hälfte nach 20 Tagen und die andere Hälfte nach 40 Tagen getötet wurde:

Abbildung 6: Fräsen des Tibiadefektes

Gruppe 1 : HD 20 - HD 40
Hypophysektomie und Defekt

Gruppe 2 : D 20 - D 40
nur Defekt

Gruppe 3 : H 20 - H 40
nur Hypophysektomie

Gruppe 4 : X 20 - X 40
weder Hypophysektomie noch Defekt

2.2.7. Tötung der Ratten

In tiefer Äthernarkose wurden die Versuchstiere dekapitiert. Dabei wurde das Blut aus den Halsgefäßen zur Bestimmung der alkalischen Serumphosphatase asserviert.
Ein anschließendes Röntgenbild der Kadaver (FAXITRON805, 60 KV, 2 sec., mittleres Fach), zu dem der rechte Hinterlauf auf dem Film festgeklebt wurde, diente der Darstellung der Kallusmasse im Defekt (Abb. 7). Ferner erlaubte das Röntgenbild die Tiere, deren Tibiae eine Achsenabweichung aufwiesen, auszusondern.

Nachdem Sehnen und Muskulatur von den Tibiae abpräpariert waren (Abb. 8), wurden die proximalen Hälften fixiert.

Nach Präparation der Hoden wurde deren größter Längs- und Querdurchmesser bestimmt.

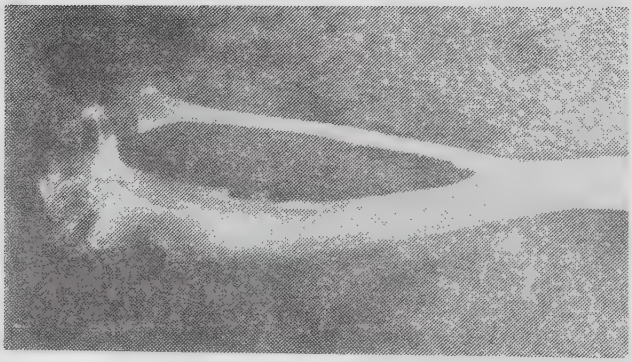


Abbildung 8 (oben):
Tibia vor dem Fixieren,
Gruppe HD 40 (Hypophys.,
Defekt, 40 Tage)

Abbildung 7 (links):
Postmortal gewonnenes
Röntgenbild der Tibia,
Gruppe HD 40

2.2.8. Alkalische Phosphatase

Die alkalische Phosphatase im Serum wurde bestimmt nach der "Optimierten Standard-Methode" der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie, wobei p-Nitrophenylphosphat mit Wasser unter Enzymaktivität reagiert. Es wird p-Nitrophenol in Freiheit gesetzt, das mit Natronlauge einen Farbkomplex gibt, dessen Intensität photometrisch gemessen wird.

2.2.9. Histologische Technik

Die Fixierung der Tibiae erfolgte in CARNOY'scher Lösung und nach 5 Stunden in 70 % Alkohol.
Anschließend wurden sie in Methylmethacrylat eingebettet nach der von SCHENK (1965) angegebenen Methode.
Mit dem K-Mikrotom (JUNG) wurde ein medianer Sagittalschnitt (Abb.9) durch die vordere Tibiakante mit einer Schnittdicke von 5 µm hergestellt und auf den Objektträger aufgezogen.

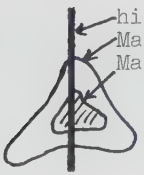


Abbildung 9:
Tibiaquerschnitt mit Darstellung der Schnittrichtung des Mikrotoms.

Nach DELLING (1975) wurde sowohl mit einer KOSSA-Modifikation gefärbt als auch eine GOLDNER-Färbung durchgeführt.
Bei der KOSSA-Färbung zeigte das Präparat den mineralisierten Knochen schwarz, das Osteoid rot und die Osteoblasten orange.
Nach der GOLDNER-Färbung waren der mineralisierte Knochen grün, das Osteoid rot und die Osteoblasten ebenfalls orange.

Die Hoden wurden in BOUIN'schem Gemisch fixiert, in Paraffin eingebettet und nach TONUTTI mit Hämalaun-Orange G-Phosphormolybdänsäure-Anilinblau gefärbt.

2.2.10. Morphometrie des Kallus

Die den Defekt im Tibiakopf ausfüllende Kallusmasse wurde in einer Diaserie lückenlos erfaßt (Abb. 10). Dazu wurde der Kallus im Großfeldmikroskop (LEITZ VARIO-ORTHOMAT) bei Vergrößerung 1:47,25 mit 15-25 nebeneinanderliegenden Einstellungen mikrophotographiert (LEITZ VARIOMAT, AGFACHROME 50 L PROF.).

Auf das Meßtablett des Morphometriegerätes MOP AM 02 (KONTRON, München) wurde ein Gitternetz mit der Kantenlänge der Gitterquadrate von 10 mm projiziert. Dieses Raster überlagerte das projizierte, zu vermessende Dia. Durch Registrieren der Schnittpunkte zwischen

Abbildung 10: Darstellung der flächigen Abdeckung des Kallus und der Wachstumsfuge durch Diapositive. Jedes Kästchen steht für ein Dia.

Struktur und horizontalen Rasterlinien mit Hilfe eines Sensors erhielt man die Meßwerte pro Dia für:

- Osteoid
- Trabekel
- Restfläche, unterschieden in:
  - blutbildendes Mark
  - Bindegewebe
  - Faserknorpel
  - undifferenziertes Gewebe.

Die Meßzahlen pro Versuchstier ergaben sich aus der Addition aller Meßwerte der zu diesem Versuchstier gehörenden Diaserie.

Als Grundlage für diese Meßtechnik dient die Methode des "zufälligen Überschneidens" einer Testlinienschar mit der zu vermessenden Struktur. Wird die Testlinienschar durch ein umschriebenes Testfeld (Meßtablett) begrenzt, dann läßt sich aus der Länge der Begrenzungslinien der im Testfeld gelegenen Profile ihre Gesamtfläche auf leichte Weise hinreichend genau bestimmen, da die Kantenlänge der Quadrate im Gitter 10 mm beträgt (SCHENK et OLAH 1980).

2.2.11. Morphometrie der Wachstumsfugen

Die Wachstumsfugen wurden mit der gleichen Technik wie der Kallus mikrophotographiert und ausgemessen.
Lediglich der Vergrößerungsmaßstab des Großfeldmikroskops war verändert: 1:80,64.
Für jede Fuge wurden drei Dias erstellt: jeweils eines im hinteren, mittleren und vorderen Anteil (Abb. 10).
An fünf nebeneinanderliegenden vertikalen Rasterlinien entlang wurde auf jedem Dia

- die Breite der Hypertrophiezone,
- die Breite der Proliferationszone,
- die Gesamtbreite der Fuge

gemessen. Daraus ergaben sich für jedes Versuchtier 15 Meßwerte pro Zone.

2.2.12. Statistische Auswertung

a) Gewichtskurven

Die relative Änderung der Körpergewichte gegenüber dem Versuchsbeginn diente als Basis für die Gewichtskurven:

$$\text{rel.Gew.Änd.} = \frac{\text{laufendes Gew.} - \text{Ausgangsgew.}}{\text{Ausgangsgewicht}}$$

Aus diesen Werten wurde pro Meßtag gruppenbezogen das arithmetische Mittel bestimmt,

und es wurden damit die Kurven erstellt.

b) Hodenquerschnitte

Zur Auswertung der postmortal bestimmten Hodenquerschnitte aller Versuchsgruppen mußten Unterschiede zwischen 8 Gruppen geprüft werden.Da über die Verteilungstypen nichts bekannt war und mehrere Tests mit den gleichen Daten die vorgegebene Irrtumswahrscheinlichkeit . nicht mehr garantieren, kamen weder T-Tests noch Vorzeichentests in Betracht, sondern nur Tests vom KRUSKAL-WALLIS-Typ (MILLER 1981).

c) Kallusgewebe

Aus den für jedes Tier ermittelten Meßwerten der Morphometrie des Kallus der Versuchsgruppen HD und D wurde das arithmetische Mittel für alle gefundenen und vermessenen Gewebe gebildet, um einen groben Vergleich zwischen den Gruppen zu ermöglichen. In die anschließende statistische Auswertung gingen jedoch die Einzeldaten jedes Tieres der Gruppen ein.
Da auch hier über die Verteilungstypen nichts bekannt war, kamen wie vorher nur Tests vom KRUSKAL-WALLIS-Typ in Frage (MILLER 1981).

d) Wachstumsfugen

Um einen groben Vergleich zu ermöglichen, wurde aus den Meßdaten jedes Tieres das arithmetische Mittel gebildet.
Da auch hier über die Verteilungstypen nichts vorausgesetzt werden konnte, kamen wiederum nur Tests vom KRUSKAL-WALLIS_Typ in Frage.

e) Alkalische Phosphatase

Die Anwendung eines Tests erwies sich als überflüssig, da schon der Augenschein ergab, daß die gewonnenen Daten keinen Unterschied zwischen den Gruppen anzeigten.

3. Ergebnisse

3.1. Erfolgskriterien der Hypophysektomie

Intra operationem war eine erste Kontrolle der Hypophysektomie die makroskopische Inspektion der abgesaugten Hypophyse (Abb. 5) auf Vollständigkeit.

Die hypophysektomierten Tiere zeigten nach Erholung vom Operationsstreß ein gesträubtes Fell und verhielten sich apathisch. Während des Versuchs fiel eine zunehmende Atrophie der Hoden auf.

Die histologische Beurteilung des Keimdrüsenepithels (Abb. 11) bewies, daß die Spermiogenese weitgehend zum Stillstand gekommen war.

Die Gewichte der hypophysektomierten Tiere stagnierten nach der Operation, während die Gewichtskurve der nichthypophysektomierten Tiere anstieg (Abb.12, Abb. 13).

Die Breite der Wachstumsfugen war nach Hypophysektomie geringer als bei den nichthypophysektomierten Tieren.

Ein KRUSKAL-WALLIS-Test zeigte bei einer vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit von α=0,05

zunächst, daß Unterschiede zwischen den 8 Gruppen bezüglich der Hodenquerschnitte bestehen. Ein weiterer Vergleichstest vom KRUSKAL-WALLIS-Typ lokalisierte innerhalb der 8 Versuchsgruppen diese Verschiedenheiten so, daß ein signifikanter Unterschied zwischen hypophysektomierten und den Gruppen der übrigen nichthypophysektomierten Tiere besteht (Tab. 1, Tab. 2): Die Hodenquerschnitte der hypophysektomierten Tiere sind kleiner als die der nichthypophysektomierten.

Gruppe	Hoden-quersch.
HD 20	93,62
D 20	244,87
H 20	87,14
X 20	267,75
HD 40	91,00
D 40	247,12
H 40	95,42
X 40	278,12

Tabelle 2:

Arithmetische Mittel der in Tab.1 aufgeführten größten Hodenquerschnitte in qmm.

Tier	Gruppe	Hoden	Tier	Gruppe	Hoden
402B	HD 20	91	108A	D 20	286
403A	HD 20	98	108B	D 20	228
403B	HD 20	98	108C	D 20	228
709A	HD 20	112	109B	D 20	240
709B	HD 20	91	110A	D 40	240
710B	HD 20	91	110B	D 40	266
711A	HD 20	84	111A	D 40	209
712B	HD 20	84	111B	D 40	273
701A	HD 40	98	111C	D 40	252
701B	HD 40	98	112A	D 40	252
702A	HD 40	98	104A	D 40	209
703A	HD 40	98	105B	D 40	273
704A	HD 40	77	803A	H 20	91
704B	HD 40	91	803B	H 20	78
706A	HD 40	84	804A	H 20	84
706B	HD 40	91	804B	H 20	84
707B	HD 40	84	805A	H 20	78
101A	D 20	228	805B	H 20	91
103B	D 20	260	806A	H 20	104
107A	D 20	273	802A	H 40	120
107B	D 20	216	802B	H 40	91

Tabelle 1: Hodenquerschnitte aller Versuchstiere in qmm

Tier	Gruppe	Hoden
807A	H 40	78
807B	H 40	84
808A	H 40	84
808B	H 40	91
809A	H 40	120
201A	X 20	264
201B	X 20	286
202A	X 20	240
202B	X 20	286
203A	X 20	308
206A	X 20	198
206B	X 20	240
206C	X 20	322
203B	X 40	308
204A	X 40	286
204B	X 40	322
205A	X 40	244
205B	X 40	244
207B	X 40	198
208A	X 40	266
208B	X 40	315

Tabelle 1:(Fortsetzung)
Hodenquerschnitte aller Versuchstiere in qmm

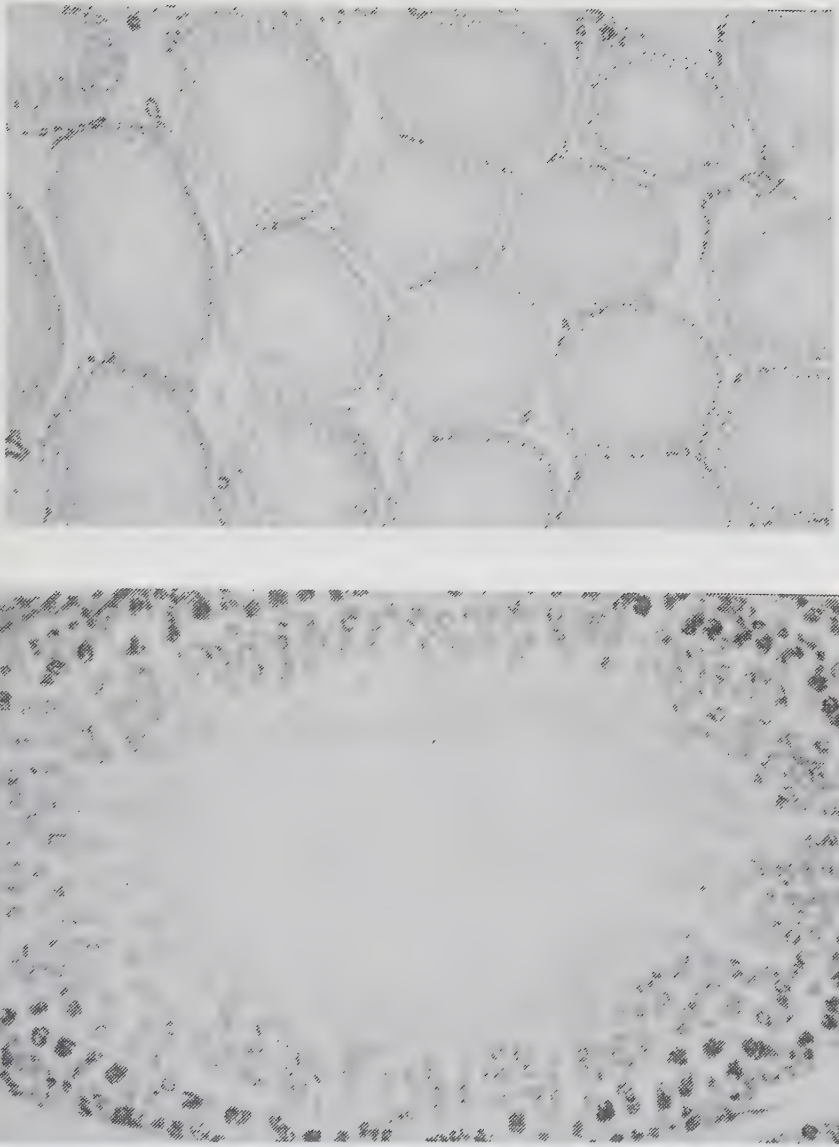
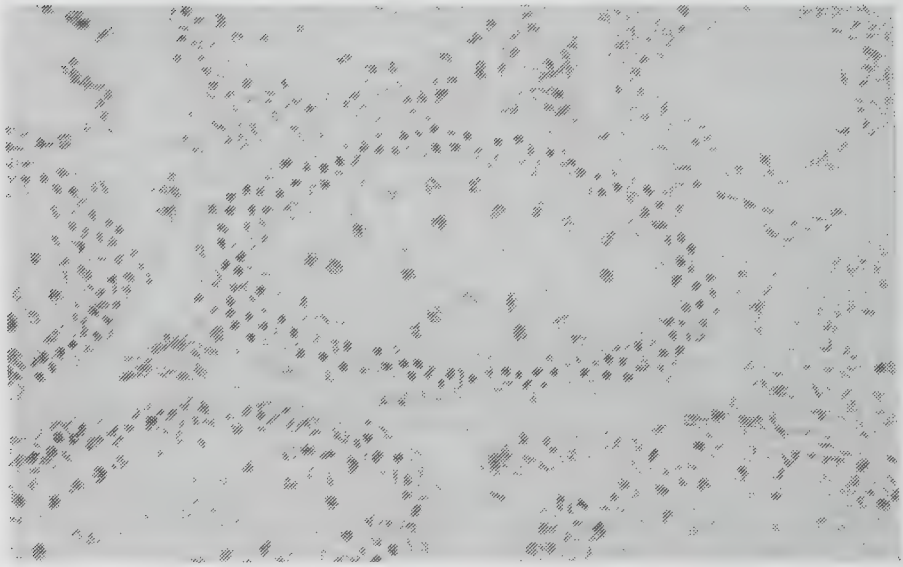


Abbildung 11: Vergleich Keimdrüsenepithel: linke Seite intakte Spermiogenese (Gruppe D 20), rechte Seite Stillstand der Spermiogenese (Gruppe HD 20); Vergrößerung: oben: 1:20,16 und untere Reihe: 1:80,64



3.2. Röntgenbilder

An Hand der postmortal angefertigten Röntgenbilder (Abb. 7) konnten alle Ratten der Defektgruppen hinsichtlich der Qualität ihres Defektes, des Kallus und des Kriteriums einer eventuell vorhandenen Achsenabweichung beurteilt werden. Dadurch war eine Selektion vor der Auswertung und eine Homogenisierung des Versuchsgutes möglich.

3.3. Alkalische Phosphatase

Die Untersuchung ergab hinsichtlich der Meßwerte der alkalischen Serumphosphatase (Tab.3) keinen Unterschied zwischen den Gruppen.

3.4. Gewichtskurven

Sowohl im 20-Tage-Versuch (Abb. 12) als auch im 40-Tage-Versuch (Abb. 13) verlaufen die Kurven für HD und H nahezu horizontal. HD weist in beiden Versuchen ein höheres Gewicht auf als H.

Bei den Gruppen D und X deutet ein Anstieg der Kurven auf einen Gewichtszuwachs während des Versuchs hin. Im 20-Tage-Versuch liegt die Kurve von D bis zum 13. Tag unterhalb der von X, dann liegt sie nach dem Kurvenschnittpunkt oberhalb von X. D hat also nach dem 13. Tag ein höheres Gewicht als X.
Auch im 40-Tage-Versuch schneiden sich die Kurven, hier am 10. Tag.

Tier	Gruppe	Alkal. Phosph.	Tier	Gruppe	Alkal. Phosph.
402B	HD 20	176	108A	D 20	190
403A	HD 20	166	108B	D 20	262
403B	HD 20	146	108C	D 20	275
709A	HD 20	155	109B	D 20	268
709B	HD 20	237	110A	D 40	227
710B	HD 20	128	110B	D 40	278
711A	HD 20	237	111A	D 40	195
712B	HD 20	109	111B	D 40	227
701A	HD 40	1060	111C	D 40	167
701B	HD 40	780	112A	D 40	210
702A	HD 40	540	104A	D 40	170
703A	HD 40	680	105B	D 40	140
704A	HD 40	246	803A	H 20	258
704B	HD 40	146	803B	H 20	326
706A	HD 40	264	804A	H 20	340
706B	HD 40	382	804B	H 20	226
707B	HD 40	182	805A	H 20	240
101A	D 20	206	805B	H 20	292
103B	D 20	178	806A	H 20	334
107A	D 20	236	802A	H 40	1000
107B	D 20	181	802B	H 40	840

Tabelle 3: Werte der alkal. Serumphosphatase aller Gruppen in U/L

Tier	Gruppe	Alkal. Phosph.
807A	H 40	92
807B	H 40	164
808A	H 40	136
808B	H 40	60
809A	H 40	120
201A	X 20	210
201B	X 20	200
202A	X 20	270
202B	X 20	204
203A	X 20	267
206A	X 20	341
206B	X 20	350
206C	X 20	350
203B	X 40	270
204A	X 40	190
204B	X 40	280
205A	X 40	236
205B	X 40	230
207B	X 40	212
208A	X 40	182
208B	X 40	276

Tabelle 3:(Fortsetzung)
Werte der alkal. Serumphosphatase aller Gruppen in U/l

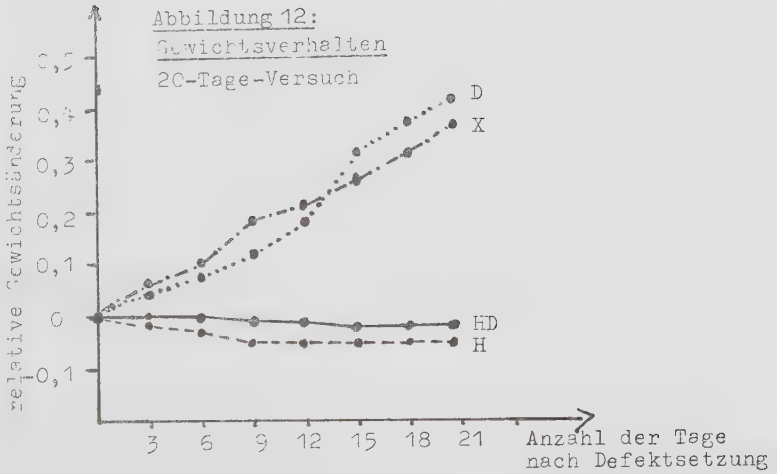
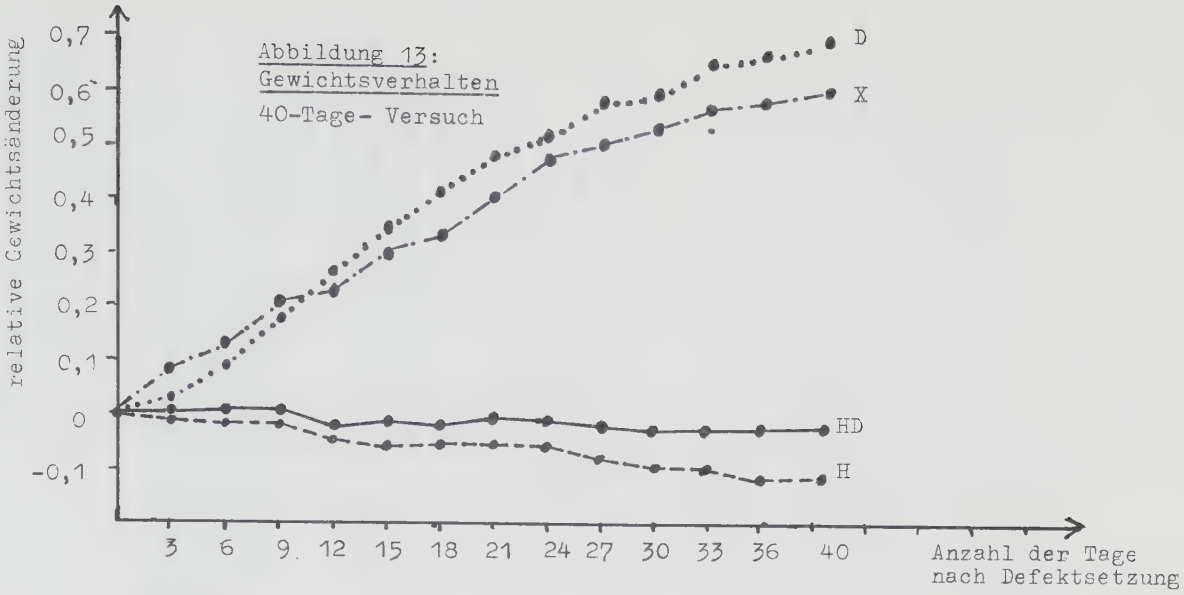


Abbildung 12:
Gewichtsverhalten
20-Tage-Versuch

Versuchsgruppen:

HD : Hypophysektomie und Defekt ————————
H : Hypophysektomie — — — — —
D : Defekt ·····
X : weder Hypophysektomie noch Defekt ·—·—·—·



Versuchsgruppen:

HD : Hypophysektomie und Defekt ——————
H : Hypophysektomie — — — — —
D : Defekt •••••••
X : weder Hypophysektomie noch Defekt •—•—•—•—

3.5. Histologischer Befund

20-Tage-Versuch, Hypophysektomie u. Defekt:
Der Vorderrand des Tibiakopfes zeigt eine konkave Einziehung. An sie schließt sich ein faseriges, manchmal auch knorpeliges Gewebe an. Der Rest des Defektes wird von einem Geflechtknochen ausgefüllt. Dieser wird zu den Rändern des Defektes hin meist dichter.
Die Geflechtknochenbälkchen sind netzförmig angeordnet und weisen zum Teil reichlich osteoide Säume auf, die von mehr oder weniger zahlreichen Osteoblasten besetzt sind.
Die hintere Corticalis ist intakt. Der Geflechtknochen geht unmittelbar in die lamelläre Corticalis über und steht teilweise auch mit den autochthonen Spongiosabälkchen der Metaphyse in Verbindung.
Zwischen den Geflechtknochenbälkchen befindet sich überwiegend blutbildendes Mark; im Zentrum jedoch auch Fasermark, welches mit den zentralen Faser- und Knorpelanteilen in Verbindung steht.

40-Tage-Versuch, Hypophysektomie u. Defekt:
Die konkave Einziehung im vorderen Tibiakopfbereich ist kleiner geworden, wie auch der sich anschließende Anteil von kollagenem Fasergewebe.

Die einzelnen Knochenbälkchen stehen isolierter und sind nicht mehr so stark netzförmig verzahnt wie nach 20 Tagen. Sie sind schlanker geworden und gleichen denen der autochthonen Spongiosa in der Nachbarschaft, indem sie bereits lamellär umstrukturiert sind.
Besonders in der äußeren Mantelzone des Defektkallus sind die osteoiden Säume spärlicher geworden. Im Zentrum, in der Nähe der vorderen konkaven Einziehung, finden sich nach wie vor breite, mit Osteoblasten besetzte Osteoidsäume.

3.6. Auswertung der Kallusmorphometrie

Die Untersuchung der Kallusgewebe (Tab. 4: Einzelwerte aller Versuchstiere, Tab. 5: arithmetische Mittel jeder Gruppe) ging von zwei getrennten Ansätzen aus:
Mit dem nichtparametrischen Vergleichstest KRUSKAL-WALLIS bei einer vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0{,}05$ wurde der Anteil des Osteoids an der Gesamtfläche aus Osteoid und Trabekel zwischen den Gruppen HD 20, HD 40, D 20 und D 40 verglichen:
Hier ist kein signifikanter Unterschied nachweisbar, das bedeutet, daß kein Unterschied in der Verknöcherung des Kallus zwischen den Gruppen zu finden ist.

Der zweite Testansatz suchte Unterschiede im Restgewebe:
Der Vergleichstest KRUSKAL-WALLIS bei einer

Tabelle 4: Werte der Kallusmorphometrie für jedes Versuchstier in qmm bezogen auf die Diavergrößerung

Tier	Gruppe	Trabekel	Osteoid	blutbild. Mark	Bindegewebe	Undiff. Gewebe	Faserknorpel
101A	D 20	362612	42780	4233142	0	0	0
103B	D 20	608665	11923	719624,3	331264,0	121371,7	0
107A	D 20	580021	24889	489947,6	135929,0	739,0	0
107B	D 20	465722	14937	438806,9	382123,4	0	56633,0
108A	D 20	559657	37961	637366,5	492031,8	0	200019,0
108B	D 20	615062	27126	905556,8	104011,9	0	0
108C	D 20	895110	127446	1698169,8	258780,7	0	0
109B	D 20	401737	7280	391441,1	0	0	0
110A	D 40	759721	6507	905195,1	0	0	0
110B	D 40	730180	30050	1334704,2	0	0	0
111A	D 40	918131	19815	1481008,5	122830,0	0	0
111B	D 40	683671	29705	959871,9	0	0	0
111C	D 40	649402	40263	1224030,9	0	0	0

Tabelle 4: (Fortsetzung) Werte der Kallusmorphometrie für jedes Versuchstier in qmm bezogen auf die Diavergrößerung

Tier	Gruppe	Trabekel	Osteoid	blutbild. Mark	Bindegewebe	undiff. Gewebe	Faserknorpel
112A	D 40	789963	21619	611931,6	0	0	0
104A	D 40	1479075	64206	1507503,4	0	0	0
105B	D 40	777942	44507	1209900,8	0	0	0
402B	HD 20	434169	14411	730232,6	0	274110,3	0
403A	HD 20	519106	75573	289985,8	330413,0	68537,9	142797,5
403B	HD 20	847355	196521	260846,2	519761,0	216699,8	53316,4
709A	HD 20	662654	3980	425082,0	0	576615,6	0
709B	HD 20	369257	23664	1440916,1	160851,4	0	36250,4
710B	HD 20	497355	16471	1032684,8	484783,5	72637,2	0
711A	HD 20	817897	65670	1396956,3	170535,4	0	0
712B	HD 20	730006	36686	1884669,0	0	64518,0	0
701A	HD 40	610548	19799	1399541,0	0	0	0
701B	HD 40	577750	9119	760982,1	63054,0	0	0

Tier	Gruppe	Trabekel	Osteoid	blutbild. Mark	Bindegewebe	undiff. Gewebe	Faserknorpel
702A	HD 40	397371	0	924719,9	54971,6	0	0
703A	HD 40	450792	58983	738747,7	89807,5	0	88878,1
704A	HD 40	332068	12248	573533,0	25535,0	0	0
704B	HD 40	312766	9593	735195,6	0	0	0
706A	HD 40	311026	15315	588265,5	27514,2	0	0
706B	HD 40	467781	3296	688814,0	0	0	0
707B	HD 40	568836	40548	768174,3	144969,8	55191,5	161954,4

Tabelle 4: (Fortsetzung)
Werte der Kallusmorphometrie für jedes Versuchstier in qmm bezogen auf Diavergrößerung

	HD 20 Hypophysek. u. Defekt 20 Tage	D 20 Defekt 20 Tage	HD 40 Hypophysek. u. Defekt 40 Tage	D 40 Defekt 40 Tage
Trabekel	[illegible]	[illegible]	447659,07	34351[illegible],62
Osteoid	54122,00	36792,75	18766,88	32084,00
blutbild. Mark	828770,35	713028,41	760623,73	1154[illegible]68,30
Binde-gewebe	208293,03	213017,55	45094,67	1603,75
Faser-knorpel	29045,53	32081,50	27870,27	0
Undiff. Gewebe	159139,85	15263,83	6132,38	0

Tabelle 5: Arithmetische Mittel der Morphometrie-meßwerte der Defektkallusgewebe. Angabe für jede Gruppe; Angabe in qmm bezogen auf die Diavergrößerung

vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$ wies einen signifikanten Unterschied zwischen HD 20 (Abb. 14) und D 20 (Abb. 15) hinsichtlich des Anteils an undifferenziertem Gewebe nach und zwischen HD 40 und D 40 einen signifikanten Unterschied beim Anteil an Bindegewebe.
Dieser Unterschied besteht in einem größeren Anteil undifferenzierten Gewebes bei HD 20 und Bindegewebes bei HD 40 gegenüber D 20 bzw. D 40.

3.7. Auswertung der Morphometrie der Wachstumsfugen

Zunächst wurde der Anteil der Proliferationszone an der Gesamtweite der Fuge zwischen allen 8 Versuchsgruppen (Tab. 6: Meßergebnis für jedes Versuchstier; Tab. 7: arithmetische Mittel jeder Versuchsgruppe; Abb. 16: Wachstumsfuge Gruppe HD 20, Vergr.: 1:47,25; Abb. 17: Wachstumsfuge Gruppe D 20, Vergr.: 1:47,25) verglichen. Der nichtparametrische KRUSKAL-WALLIS-Test wies bei einer vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$ keinen Unterschied nach. Der Anteil der Proliferationszone an der Gesamtweite der Fuge war also nicht als ungleich nachzuweisen.

Dann wurden die Meßwerte für Hypertrophiezone, Proliferationszone und Gesamtweite zwischen den Versuchsgruppen verglichen.

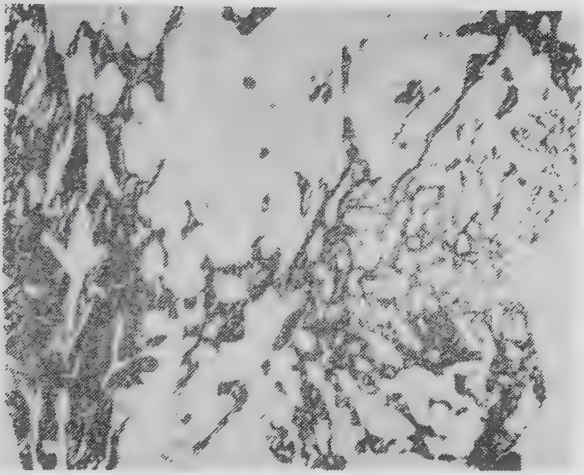


Abbildung 14: Kallusmasse Gruppe HD 20,
Vergrößerung 1:5

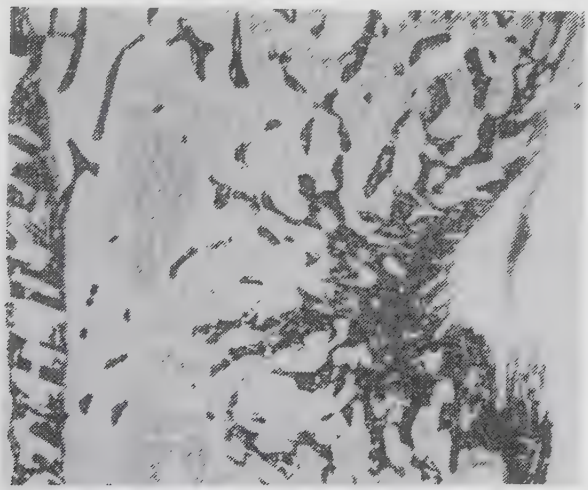


Abbildung 15: Kallusmasse Gruppe D 20,
Vergrößerung 1:5

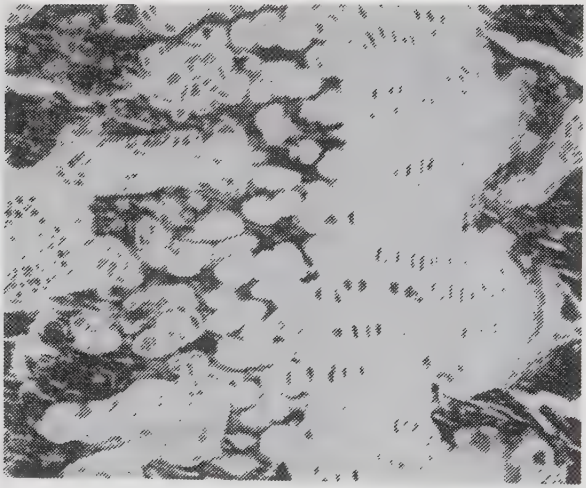


Abbildung 16: Wachstumsfuge GruppeHD 20,
Vergrößerung: 1:47,25

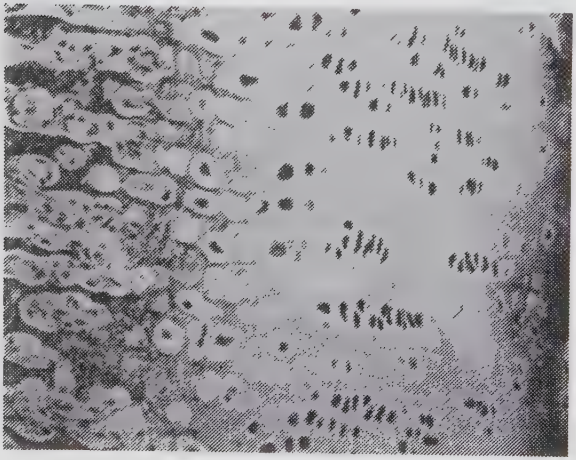


Abbildung 17: Wachstumsfuge Gruppe D 20,
Vergrößerung: 1:47,25

Tier	Gruppe	Hypertroph. Zone	Prolif. Zone	Gesamt-höhe
402B	HD 20	54,58	92,88	148,69
403A	HD 20	35,12	137,66	166,22
403B	HD 20	31,48	96,52	129,99
709A	HD 20	45,12	109,30	154,40
709B	HD 20	67,58	111,62	181,48
710B	HD 20	55,56	90,91	145,91
711A	HD 20	45,79	80,71	125,04
712B	HD 20	61,60	106,13	167,92
701A	HD 40	36,74	83,31	119,96
701B	HD 40	44,44	91,67	129,02
702A	HD 40	41,62	69,69	110,68
703A	HD 40	34,25	113,74	148,07
704A	HD 40	47,47	70,73	118,86
704B	HD 40	47,98	91,97	139,86
706A	HD 40	53,52	92,78	153,42
706B	HD 40	45,92	84,97	130,10
707B	HD 40	37,18	92,71	129,03
101A	D 20	79,39	182,88	260,82
103B	D 20	62,98	136,94	203,49
107A	D 20	64,91	204,16	268,89
107B	D 20	42,40	172,61	215,20

Tabelle 6: Meßergebnis der Wachstumsfugen in mm bezogen auf die Diavergrößerung

Tier	Gruppe	Hypertroph. Zone	Prolif. Zone	Gesamt-höhe
108A	D 20	72,50	173,69	246,51
108B	D 20	45,05	166,61	212,52
108C	D 20	53,42	185,40	237,56
109B	D 20	63,30	133,35	199,88
110A	D 40	61,04	157,97	219,13
110B	D 40	62,40	132,21	194,76
111A	D 40	55,48	153,15	208,65
111B	D 40	53,26	139,32	192,82
111C	D 40	60,06	161,71	223,28
112A	D 40	85,00	161,61	250,88
104A	D 40	60,96	127,22	187,39
105B	D 40	44,76	179,77	224,19
803A	H 20	53,81	99,52	143,82
803B	H 20	59,84	84,58	144,04
804A	H 20	61,66	89,04	150,25
804B	H 20	58,55	102,09	160,31
805A	H 20	63,42	87,15	149,80
805B	H 20	53,37	106,93	159,51
806A	H 20	74,86	89,86	164,58
802A	H 40	52,72	79,34	133,79
802B	H 40	49,90	69,47	118,99

Tabelle 6: (Fortsetzung) Meßergebnis der Wachstumsfugen in mm bezogen auf die Diavergrößerung

Tier	Gruppe	Hypertroph. Zone	Prolif. Zone	Gesamt-höhe
807A	H 40	27,11	77,21	104,00
807B	H 40	37,01	98,18	131,68
808A	H 40	49,39	90,30	139,51
808B	H 40	47,70	96,99	144,69
809A	H 40	39,12	73,92	107,46
201A	X 20	80,92	120,09	201,00
201B	X 20	74,97	184,01	258,92
202A	X 20	82,69	140,07	222,70
202B	X 20	72,87	192,18	264,69
203A	X 20	89,41	165,61	254,81
206A	X 20	54,04	130,30	184,33
206B	X 20	63,68	186,38	250,10
206C	X 20	95,65	134,69	230,44
203B	X 40	58,95	123,63	180,25
204A	X 40	60,55	132,19	193,23
204B	X 40	56,54	120,61	177,13
205A	X 40	45,68	135,69	175,34
205B	X 40	55,01	142,39	196,53
207B	X 40	54,31	117,78	171,24
208A	X 40	64,43	125,17	183,85
208B	X 40	53,77	115,89	189,20

Tabelle 6: (Fortsetzung) Meßergebnis der Wachstumsfugen in mm bezogen auf die Diavergrößerung

	Breite Hypertrophiezone	Breite Proliferationszone	Gesamtbreite
HD 20	49,60	103,21	152,45
D 20	60,49	169,45	230,60
H 20	60,78	94,16	153,18
X 20	76,78	156,67	233,37
HD 40	48,64	98,94	147,37
D 40	60,37	151,62	212,63
H 40	43,27	83,63	125,73
X 40	56,16	126,67	180,85

Tabelle 7: Arithmetische Mittel der Morphometriemeßwerte der Wachstumsfugen
Angaben in mm bezogen auf die Diavergrößerung

Bei einer vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$ führte die Anwendung eines KRUSKAL-WALLIS-Tests zu dem Ergebnis, daß bei den Meßwerten für Proliferationszone und für Gesamtweite Unterschiede zwischen den Gruppen bestehen; für den Meßwert der Hypertrophiezone konnte kein Unterschied nachgewiesen werden.
Ein weiterer Vergleichstest vom KRUSKAL-WALLIS-Typ lokalisierte bei gleicher vorgegebener Irrtumswahrscheinlichkeit die Unterschiede für die Proliferationszone und die Gesamtweite:
Gegenüber den nichthypophysektomierten Ratten zeigten die hypophysektomierten Tiere eine geringere Gesamtweite der Fuge und eine schmalere Proliferationszone.
Die Gruppen X und D wiesen im 20-Tage-Versuch gleich breite Zonen auf.
Nach 40 Tagen besaß D gegenüber X eine breitere Fuge bei breiterer Proliferationszone und gleicher Hypertrophiezone.
Beim Vergleich sämtlicher 20-Tagestiere mit den 40-Tagestieren zeigte sich, daß die Gesamtweite der Fuge, bedingt durch die Breite der Proliferationszone, größer war als bei den 40-Tagestieren.

4. Diskussion der Ergebnisse

a) Einfluß der Hypophysektomie auf die Defektheilung:

Die Auswertung der Kallusmorphometrie verdeutlichte, daß die Hypophysektomie weder nach 20 Tagen noch

nach 40 Tagen einen Einfluß hat auf den prozentualen Anteil von Osteoid an knöchernem Kallus (mineralisierter Knochen + Osteoid). Daraus läßt sich schließen, daß der Einfluß der Hypophysektomie auf den Umbauprozess von Osteoid in mineralisierten Knochen nicht nachweisbar ist.

Dieses Ergebnis stimmt überein mit dem Resultat einer Untersuchung von WRAY und GOLDSTEIN (1966), die an hypophysektomierten, tibiafrakturierten Ratten ebenfalls keine Beeinflussung der Frakturheilung durch die Hypophysektomie fanden.
Im Gegensatz dazu berichteten TYLKOWSKI et al. (1976) über eine verzögerte Kallusbildung bei hypophysektomierten, frakturierten Ratten, jedoch lediglich basierend auf der optischen Beurteilung des entkalkt eingebetteten Präparates und ohne weitere Differenzierung der Kallusanteile vorzunehmen.

20 Tage nach Defektsetzung fand sich im vorliegenden Versuch im Kallus des hypophysektomierten Tieres mehr undifferenziertes Gewebe als bei den nichthypophysektomierten Ratten. Nach 40 Tagen fand sich bei den hypophysektomierten Tieren mehr Bindegewebe als bei den übrigen.
Daraus ist eine Differenzierung des zunächst undifferenzierten Gewebes in Bindegewebe und nicht in Knochen unter dem Einfluß der Hypophysektomie zu folgern.

b) Einfluß der Hypophysektomie auf die Wachstumsfuge:

Die Änderung der Wachstumsfugenbreite, sowohl im Sinne einer Verbreiterung als auch im Sinne einer Verschmälerung, konnte als Änderung der Breite der Proliferationszone bei konstanter Breite der Hypertrophiezone identifiziert werden.

Die Hypophysektomie bewirkte eine nachweisbare Verschmälerung der Proliferationszone, die von der Defektkallusbildung nicht beeinflußt wurde.

MUELLER (1964) berichtete ebenfalls über eine schmalere Wachstumsfuge bei hypophysektomierten Ratten, ohne jedoch die Zonen der Wachstumsfuge im einzelnen zu untersuchen.

Im Vergleich der nichthypophysektomierten Ratten wirkte sich der Tibiakopfdefekt nach 20 Tagen nicht signifikant auf die Breite der Wachstumsfuge aus.

Erst nach 40 Tagen zeigten die Ratten mit Tibiakopfdefekt gegenüber denen ohne Defekt eine nachweisbar breitere Proliferationszone und somit eine höhere Wachstumsfuge.

Der Vorgang der Defektheilung bewirkt also nach 40 Tagen Versuchsdauer eine nachweisbare Verbreiterung der Wachstumsfuge. Dieser Effekt kommt nach unseren Ergebnissen nach Hypophysektomie jedoch nicht zum Tragen.

Auch REISMANN (1978) hat auf Grund klinischer Messungen und tierexperimenteller Ergebnisse ein Mehrwachstum nach Frakturen festgestellt.

Da nach unseren Ergebnissen die Gesamtbreite der Wachstumsfuge in sämtlichen Gruppen im 20-Tage-Versuch größer ist als nach 40 Tagen Versuchsdauer, kann man unter der Voraussetzung, daß die Änderung der Dicke der Wachstumsfuge dem Längenwachstum direkt proportional ist (RANG 1969, SEINSHEIMER et SLEDGE 1981), annehmen, daß mit zunehmendem Alter der Tiere der Wachstumszuwachs abnimmt.

c) Einfluß der Hypophysektomie auf das Körpergewicht:

Unter den hypophysektomierten Tieren hatten diejenigen mit Tibiakopfdefekt ein höheres Körpergewicht als die nur hypophysektomierten. Bei den nicht hypophysektomierten Ratten waren ebenfalls die Tiere mit Defekt schwerer als diejenigen ohne Defekt, dies jedoch erst ab dem 10. bzw. 13. Tag.
Dieser Gewichtszuwachs geht eher zu Lasten der zunehmenden Defektkallusmasse als zugunsten eines vermehrten Längenwachstums.
Würde man letzteres als die Ursache ansehen, müßte man bei den Gewichtskurven eine stärkere Divergenz der beiden nicht hypophysektomierten Gruppen erwarten, da bei diesen eine größere Wachstumszunahme gegenüber den hypophysektomierten besteht.
Da nach den morphometrischen Messungen der Kallusanteil zwischen diesen beiden Gruppen nicht unterschiedlich ist, kann man einen weitgehend parallelen Kurvenverlauf der Gruppen mit und ohne Defekt beobachten.

Der bei allen Versuchsgruppen mit Defekt festgestellte Gewichtszuwachs gegenüber den Vergleichsgruppen stimmt mit den Beobachtungen von HANSSON et al. (1976) überein, die durch Fraktur eine um 8 % gesteigerte Wachstumsrate bei der Ratte fanden.

d) Morphometrie des Kallus

Im vorliegenden Experiment divergieren der optische Eindruck und das statistisch gesicherte Ergebnis der Morphometrie des Kallus zwischen den 20 und 40 Tage alten Defekten nach Hypophysektomie.
Der rein qualitativ optische Vergleich der histologischen Präparate weist auf eine Verminderung der osteoiden Säume nach 40 Tagen hin.
Nach quantitativer morphometrischer Ausmessung konnte ein solches Ergebnis statistisch nicht gesichert werden. Es war im Gegenteil kein Unterschied im Anteil des Osteoids an der Fläche aus Trabekel und Osteoid nachweisbar. Diese Diskrepanz gibt einen Hinweis auf die Notwendigkeit der Anwendung objektivierbarer Meßmethoden, wie der Histomorphometrie, zur Sicherung der Ergebnisse.

e) Alkalische Phosphatase

Da die Höhe der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum als Parameter für die Osteoblastenaktivität gilt, sollte die Bestimmung der Serumaktivität zur Beurteilung der Umbauvorgänge im Defektkallus beitragen.

Die durch photometrische Messung gewonnenen Werte waren gruppenweise auf dem Zahlenstrahl so sehr miteinander verzahnt, daß eine weitere Auswertung überflüssig war, da sich aus diesen Daten offenbar kein Unterschied zwischen den Gruppen ergab.
Auch HÖCKER (1969) berichtete über eine derart starke Streuung der Werte, daß er eine statistisch gesicherte Aussage nicht machen konnte.
VAN LENTE (1979) kritisiert die üblichen Meßmethoden zur Bestimmung der Serumaktivität der alkalischen Phosphatase. Mit diesen photometrischen Methoden werden alle Isoenzyme, also die aus der Leber und dem Intestinum miterfaßt. VAN LENTE empfiehlt die Differenzierung der Isoenzyme mit Methoden der Elektrophorese oder durch immunologische Antikörpermethoden.

5. Zusammenfassung

An 16 hypophysektomierten männlichen Sprague-Dawley-Ratten (180-220 g Ausgangsgewicht) wurde ein bezüglich Größe und Qualität standardisierter Defekt an der rechten Tibia gesetzt und der nach 20 bzw. 40 Tagen Versuchsdauer entstandene Defektkallus quantitativ histomorphometrisch vermessen. Die Dicke der dem Defekt benachbarten Wachstumsfugen wurden ebenfalls histomorphometrisch gemessen.
Als Vergleich dienten 16 nur hypophysektomierte Tiere, 16 Tiere nur mit Defekt, und 16 unbehandelte Ratten.

Der Versuch hat ergeben:

1. Bei der Untersuchung des Anteils der osteoiden Säume an der Fläche aus Trabekel und Osteoid im Defektkallus und beim Vergleich der 20 und 40 Tage alten Defekte der hypophysektomierten und nicht hypophysektomierten Tiere:
   Ein vermuteter Einfluß der Hypophysektomie auf die Defektkallusbildung ist nicht nachweisbar.
   Ein Unterschied zwischen dem Ergebnis nach 20 Tagen Versuchsdauer und dem nach 40 Tagen ist ebenfalls nicht nachweisbar,

2. bei der Untersuchung des Restgewebes des Kallus, bestehend aus blutbildendem Mark, Bindegewebe, Faserknorpel und undifferenziertem Gewebe:
   Nach 20 Tagen weisen die hypophysektomierten Tiere mehr undifferenziertes Gewebe auf als die nicht hypophysektomierten Tiere. Das undifferenzierte Gewebe ist nach 40 Tagen in Bindegewebe und nicht etwa in Knochen umgewandelt worden. Somit bewirkt die Hypophysektomie eine stärkere bindegewebige Ausdifferenzierung.

3. Die Wachstumsfugen der hypophysektomierten Versuchstiere sind nachweisbar schmaler als die der Vergleichstiere.
   Die Defektheilung wirkt sich bei den hypophysektomierten Ratten nicht im Sinne einer Verbreiterung der Wachstumsfuge aus.

4. Bei den nicht hypophysektomierten Ratten bewirkt die Defektheilung nach 40 Tagen eine signifikante Verbreiterung der Wachstumsfuge und somit ein vermehrtes Längenwachstum gegenüber den unbehandelten Kontrolltieren.

5. Das Körpergewicht nach Hypophysektomie bleibt konstant, wogegen die nicht hypophysektomierten Ratten während des Versuchs deutlich an Gewicht zunehmen.
   Die Defektheilung bewirkt ein höheres Gewicht gegenüber den Kontrolltieren.

6. Literatur

AILBOUNI, H., DIKSTEIN, S., ZOR, U., SULMAN, F.G.: Specifity of the 'Tibiatest' in intact immature female rats. J.Endocrinol.35, 393-399 (1966)

ASLING, C.W., NELSON, L.E.: Autoradiographic localisation of Growth Hormone induced proliferation in bone and certain soft tissues. Radioisotopes 77, 191-195 (1962)

ASLING, C.W., TSE, F.,ROSENBERG, L.L.: Growth Hormone Ed.: Pecile A., Müller E. Internat.Congr.Series No.158 Excerpta med (Amst.) 319 (1968)

BABAYAN, R., BETHGE, J.R.J., V.FEHRENTHEIL,R., TEN HOFF, H.: Versuch der biochemischen Beeinflussung der Frakturheilung im Tierexperiment. Med.Welt 46, 1725-1732 (1979)

BAETZNER, P., FEHM, H.L., VOIGT, H.K., SCHLEYER, M., PFEIFFER, E.F.: Measurement of biological activity in various growth hormone preparations using a modified tibia test. Acta Endocrinol. 70, 231-238 (1972)

BOHR, H.H.: The influence of different hormones on bone formations in rats. Acta Endocrinol. 58, 116-122 (1968)

BOURNE, G.H.: The Biochemistry and Physiology of Bone Physiology and Pathology Vol II, 155-195 Academic Press, New York (1972)

CLAES, L., MUTSCHLER, W.: Quantitative investigations on newly-built bone in defects. Arch.Orthop.Trauma.Surg. 98, 257-261 (1981)

DANDY, W.E., REICHERT, I.L.: Studies on experimental hypophysectomy in dogs. Bull.JohnHopkinsHosp. 62, 122 (1938)

DELLING, G.: Endocrine Osteopathien
in: Veröff.aus der Pathologie
Hrsg.: W. Jüngeler u. Mitarb.
Fischer Verlag, Stuttgart 1975

DOTT, N.M., FRASER, J.: The influence of experimental pituitary and thyroid derangements upon the development growth of bone.
Q.J.Exp.Physiol.Suppl. 13, 107-108 (1923)

ERDHEIM, J.: Nanosomia pituitaria
Beitr.Pathol.Anat.62, 302-352 (1916)

EVANS, H.M., SIMPSON, M.E., MARX, W., KIBRICK, E.:
Bioassay of the pituitary growth hormone, width of the proximal epiphyseal cartilage of the tibia in hypophysectomized rats.
Endocrinology 32, 13-16 (1943)

FORTMEYER, H.P.: Der Einfluß von Umweltfaktoren auf die Dauer der Narkose mit Pentobarbital-Natrium bei Ratten. Ein Beitrag zur Festlegung optimaler Adaptationszeiten nach dem Transport.
Arzneim.-Forsch.(Drug Res.)24, 1824-2025 (1974)

GREENSPAN, F.S., LI, C.H., SIMPSON, M.E.,
EVANS, H.M.: Bioassay of hypophyseal growth hormone: the tibiatest.
Endocrinology 45, 455-472 (1949)

GSCHWIND, I.I., LI, C.H.: Hypophyseal growth hormone
Nature and Action, 28-58
Mc Graw-Hill Publ.,New York, 1955

HANSSON, L.J., STENSTRÖM, A., THORNGREN, K.G.:
Effect of fracture on longitudinal bone growth in rats.
Acta Orthop. Scand. 47, 600-606 (1976)

HEROLD, H.Z., HURVITZ, A., TADMOR, A.: The effect of growth hormone on the healing of experimental bone defects.
Acta Orthop. Scand. 42, 377-384 (1971)

HÖCKER, W.: Über den Einfluß somatotroper HVL-Hormone auf die Aktivität der alkalischen Serumphosphatase und auf das Körpergewicht bei hypophysektomierten Tauben.
Endocrinology 55, 43-55 (1969)

JACKSON, R.W., REED, C.A., ISRAEL, J.A., ABOU-KEER, F.K., GARSIDE, H.: Production of a standard experimental fracture.
Can.J.Surg. 13, 415-420 (1970)

KEMBER, N.F. : Growth hormone and cartilage cell division in hypophysectomized rats.
Cell Tissue Kinet. 4, 193-199 (1971)

KOSKINEN, E.V.S.; Effect of endocrine factors on callus development in experimental fractures.
Symp.Biol.Hung. 7, 315-322 (1967)

KOSKINEN, E.V.S., LINDHOLM, R.V., NIEMINEN, R.A., PURANEN, J., ATTILA, V.: Humanes Wachstumshormon bei Frakturen der langen Röhrenknochen mit verzögerter Knochenbruchheilung.
Med.Welt 26, 1905-1910 (1975)

KOSKINEN, E.V.S., NIEMINEN, R.A., LINDHOLM, R.V., PURANEN,J., ATTILA, V.: Human growth hormone in Bone regeneration of nonhealing fractures.
Calc.Tiss.Res. (Suppl.) 22, 521-523 (1977)

VAN LENTE, F.: Alkaline and acid phosphatase determinations in bone disease.
Orthop.Clin.North Am.10, 437-450 (1979)

LI, C.H., PAPKOFF, H.: Preparation and properties of growth hormone from human and monkey pituitary glands.
Science 124, 1293-1345 (1956)

LOSTROH, J., JORDAN, F.: Improved procedure for hypophysectomy of the mouse.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med.57, 205-227 (1955)

MILLER, R.G. jr.: Simultaneous statistical Interference.
II.Ausgabe
Springer Verlag N.Y.,Berlin Heidelberg, 1981

MISOL, S., SAMAN, M., PONSETI,J.V.: Growth hormone in delayed fracture union.
Clin.Orthop. 74, 206-208 (1971)

MUELLER, K.H.: Der Einfluß des hypophysären Wachstumshormons auf das Epiphysenwachstum bei der Ratte.
Z.Orthop. 99, 57-63 (1964)

NORTHMORE-BALL, M.D., WOOD, M.R., MEGGITT, B.: A biochemical study of the effects of growth hormone in experimental fracture healing.
J.Bone Joint.Surg. 62B, 391-396 (1980)

PAPKOFF, H., LI, C.H.: Methods in Hormone Research II, 671-704
Ed.: Dorfman
Academic Press New York, 1962

PLOCHER, T. A., POWLEY, F.L.: Effect of hypophysectomy on weight gain and body composition in the genetically obese Yellow mouse.
Metabolism 5, 593-603 (1976)

RAMAN, A.: The effects of cortisone and somatotropin on bone growth in rats.
Q.J.Exp.Physiol. 54, 11-15 (1969)

RANG. M.: The Growth Plate and its Disorders
Livingstone Publ.
Edinburgh and London 1969

RAY, R.D., ASLING. C.W., WALKER, D.G., SIMPSON, M.E., LI, C.H., EVANS, H.M.: Growth and differentiation of the skeleton in thyroidectomized-hypophysectomized rats treated with thyroxin, growth hormone and the combination.
J.Bone Joint Surg. 36 A, 94-103 (1954)

REISMANN, B.: Auswirkung von Frakturen auf die kindliche Wachstumsfuge.
Fortschr.Med. 42, 2164-2168 (1978)

REIß, H., DRUCKREY, H., HOCHWALD, A.: Der Einfluß der Hypophysektomie auf den Hodenstoffwechsel.
Endocrinology 12, 243-250 (1933)

SCHENK, R.K.: Zur histologischen Verarbeitung von unentkalkten Knochen.
Acta Anat. 60, 3-19 (1965)

SCHENK, R.K., OLAH, A.J.: Histomorphometrie
in: Handbuch der Inneren Medizin
6. Band, Teil 1A, Klinische Osteologie, 437-494
Hrsg.: Kuhlencordt, F., Bartelheimer, H.
Springer Verlag Berlin,N.Y.,Heidelb. 1980

SEINSHEIMER,F., SLEDGE, C.B.: Parameters of longitudinal growth rate in rabbit epiphyseal growth plates.
J.Bone Joint Surg. 63 A, 627-630 (1981)

SIMPSON, M.E., ASLING, C.W., EVANS, H.M.: Some endocrine influences on skeletal growth and differentiation.
Yale J.Biol.Med. 45, 1-23 (1950)

SIMPSON, M.E., VAN DYKE, D.C., ASLING, C.W., EVANS, H.M.: Regeneration of the calvarium in young normal and growth hormone treated hypophysectomized rats.
Anat. Rec. 115, 615-642 (1953)

SMITH, P.E.: Hypophysectomy and a replacement therapy in the rat.
Am.J.Anat. 45, 205-273 (1930)

THORNGREN, K.G., HANSSON, L.J., MENANDER-SELLMAN, K., STENSTRÖM, A.: Effect of dose and administration period of growth hormone on longitudinal bone growth in the hypophysectomized rat.
Acta Endocrinol. 74, 1-23 (1973)

THORNGREN, K.G., HANSSON, L.J.: Effect of withdrawal of growth hormone administration on longitudinal bone growth in the hypophysectomized rat.
Acta Endocrinol. 75, 11-23 (1974)

THORNGREN, K.G., HANSSON, L.J., FRYKLUND, L., SIEVERTSSON, H.: Human somatomedinA and longitudinal bone growth in the hypophysectomized rat.
Mol.Cell.Endocrinol. 6, 217-221 (1977)

TYLKOWSKI, C.M., WEZEMAN, F.H., RAY, R.D.: Hormonal Effects on the morphology of bone defect healing.
Clin.Orthop. 115, 274-285 (1976)

WRAY, J.B., GOLDSTEIN, J.: The effect of the pituitary gland and growth hormone upon the strength of the healing fracture in the rat.
J.Bone Joint Surg. 48 A, 815-816 (1966)

Lebenslauf

Am 9. Juni 1951 wurde ich als Sohn der Eheleute Dr. Max Rückert und Martha, geb. Printz, in Ratingen geboren.
In Ratingen besuchte ich von 1956 bis 1960 die Volksschule, anschließend das Theodor-Heuss-Gymnasium, an dem ich 1970 die Reifeprüfung ablegte.
Im Studienjahr 1970/71 studierte ich Medizin in Louvain/Belgien.
Ab WS 1971/72 setzte ich das Studium der Medizin an der Universität Frankfurt/Main fort und legte im April 1972 die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab. 1974 konnte ich in die Fachrichtung Zahnmedizin wechseln, dort die zahnärztliche Vorprüfung im April 1977 ablegen,und ich bestand die zahnärztliche Prüfung im November 1979.
Die Bestallung als Zahnarzt erteilte der Regierungspräsident am 26. November 1979.
Von Februar 1980 bis April 1981 leistete ich meinen Wehrdienst in Ausübung des Berufes als Stabsarzt in einer Zahnstation der Bundeswehr in Münster/Westfalen ab.
Seit Mai 1981 arbeite ich in der Praxis eines niedergelassenen Kollegen.

Münster, am 1. September 1982

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkäre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel: "Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Hypophysektomie auf die Kallusbildung am Tibiadefekt und auf die Wachstumsfuge bei der Ratte." im Senckenbergischen Zentrum der Pathologie unter Leitung von Herrn Prof. Dr.K.Hübner mit Unterstützung durch Herrn Dr. A. Enderle und Herrn Dr. R. Fischer ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- u. ausländischen Medizinischen Fakultät bzw. Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Münster, am 1.September 1982

Michael Fischer